

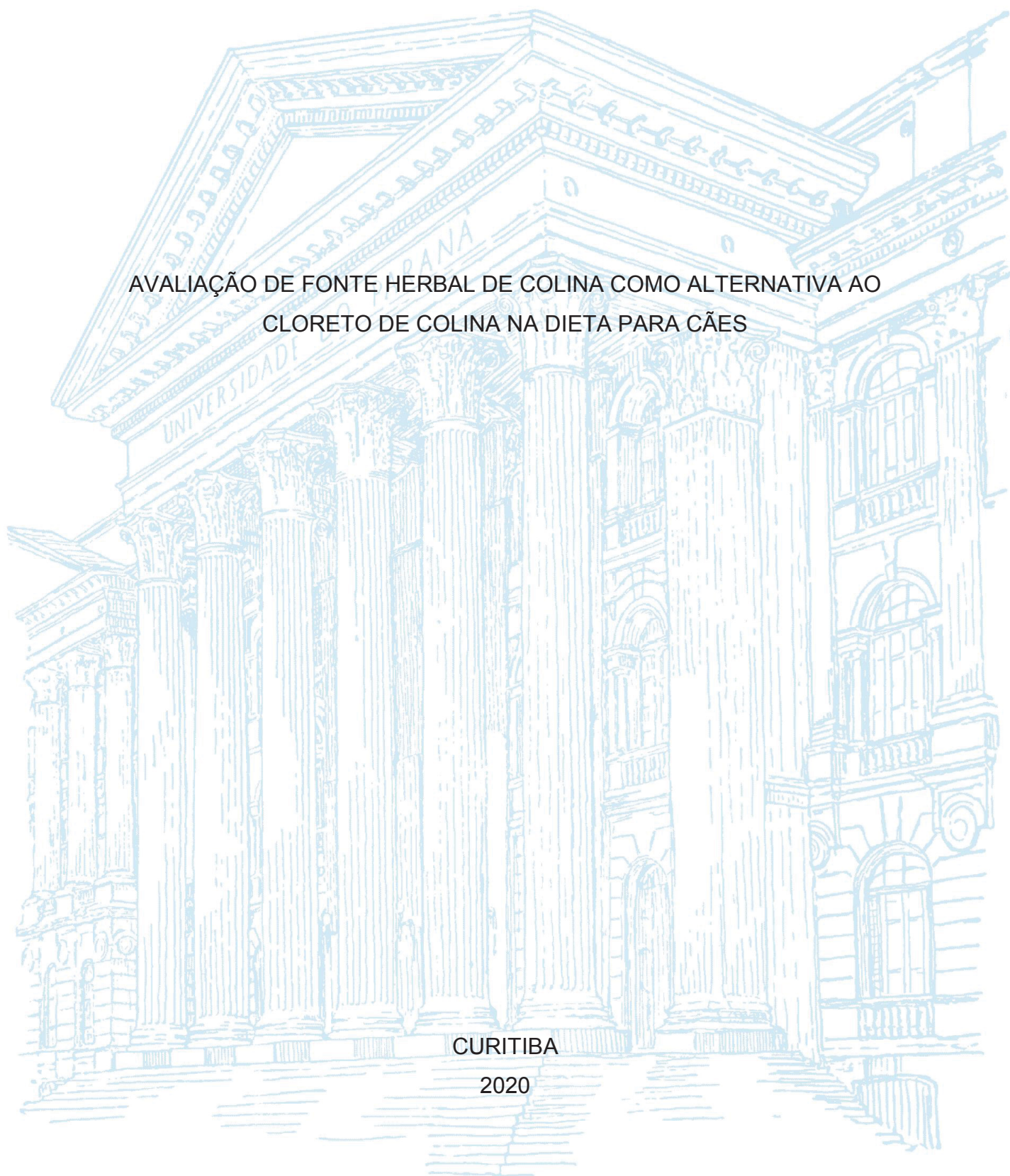
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ROSANDRA COLPANI DO NASCIMENTO

AVALIAÇÃO DE FONTE HERBAL DE COLINA COMO ALTERNATIVA AO
CLORETO DE COLINA NA DIETA PARA CÃES

CURITIBA

2020



ROSANDRA COLPANI DO NASCIMENTO

AVALIAÇÃO DE FONTE HERBAL DE COLINA COMO ALTERNATIVA AO
CLORETO DE COLINA NA DIETA PARA CÃES

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em zootecnia, Setor de Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Ananda P. Félix

CURITIBA

2020

Nascimento, Rosandra Colpani do

Avaliação de fonte herbal de colina como alternativa ao cloreto de colina na dieta para cães / Rosandra Colpani do Nascimento. - Curitiba, 2020.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

Orientadora: Ananda Portella Félix

1. Morfologia hepática. 2. Metabolismo lipídios. 3. Nutrição animal - cães. I. Félix, Ananda Portella. II. Título. III. Universidade federal do Paraná.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ZOOTECNIA -
40001016082P0

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ZOOTECNIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **ROSANDRA COLPANI DO NASCIMENTO** intitulada: **Avaliação de fonte herbal de colina como alternativa ao cloreto de colina na dieta para cães**, sob orientação da Profa. Dra. ANANDA PORTELLA FÉLIX, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua *aprovação* no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 23 de Janeiro de 2020.

ANANDA PORTELLA FÉLIX

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

MARIANA SCHERAIBER

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TUIUTI DO PARANÁ)

SIMONE GISELE DE OLIVEIRA

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Medicina Veterinária, que tem guiado tão bem os meus passos nos últimos anos, e me trouxe até aqui.

Agradeço a todos os animais que mesmo sem a consciência me tornaram uma pessoa e uma profissional melhor.

Agradeço em especial aos incríveis beagles: Soluço, Bexiga, Cookie, Thor, Paçoca, Olívia, Babalu, Chanel, Bud, Toddy, Scooby, Xuxo, Amora, Tequila, Amarula e Cacau, que além de tornarem essa pesquisa possível, foram uma das melhores partes desses dois anos.

Agradeço a todos os colegas da equipe Lenucan, ninguém faz nada sozinho, esse trabalho tem um pouco de todos.

Agradeço a todos os professores da pós-graduação, em especial a minha orientadora, Professora Ananda, pela bondade em compartilhar seu conhecimento comigo, guiando-me em momentos difíceis, obrigada pela compreensão das minhas limitações.

Agradeço a empresa Nutriquest Technofeed pelo apoio na execução dos experimentos.

Agradeço a minha mãe, Sandra, pois tudo começou com ela, mesmo não fazendo parte do meu dia-a-dia, se faz presente sempre. Sempre será meu maior e melhor exemplo de vida.

Agradeço a todos amigos e demais familiares, em especial ao meu companheiro de vida, que além de estar presente nos momentos braçais do projeto, trouxe leveza para essa caminhada.

E por último agradeço ao meu melhor amigo Feline, que nesse exato momento está deitado com uma pata apoiada em meu braço, limitando meus movimentos ao digitar. Ele foi meu fiel companheiro das horas de escrita e estudos, me lembrando todo dia do amor incondicional.

“Nada é tão nosso quanto nossos sonhos. ”

(Nietzsche)

RESUMO

A colina é considerada um nutriente essencial aos animais, sendo sua forma usual de suplementação o cloreto de colina. Porém, o cloreto de colina é altamente higroscópico, dificultando seu uso na fabricação das dietas. Deste modo, objetivou-se avaliar os efeitos do uso de uma fonte herbal de colina, sobre os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) e palatabilidade da dieta, características fecais, variáveis sanguíneas e função hepática e cardíaca de cães. Foram utilizados 16 cães adultos ($4,5 \pm 0,1$ anos) da raça Beagle, os quais foram alimentados com duas dietas: controle, contendo 0,28% de cloreto de colina 60 e teste, contendo 0,14% de uma fonte herbal de colina, durante 44 dias, distribuídos inteiramente ao acaso. No início e final do experimento foi coletado sangue e avaliada, por ultrassonografia, a morfologia hepática e por ecocardiograma a função cardíaca dos cães. Não houve alterações na digestibilidade e palatabilidade da dieta, no hemograma e leucograma e nas características fecais dos animais alimentados com o cloreto de colina ou colina herbal ($P > 0,05$). Entretanto, os cães alimentados com a fonte herbal de colina apresentaram redução ($P < 0,05$) no colesterol total e triglicerídeos séricos e na fosfatase alcalina (FA) e aspartato aminotransferase (ALT). Ainda, os cães que consumiram a fonte herbal de colina apresentaram ($P < 0,05$) dilatação de grandes vasos, como veia cava e porta, mas não foi observada nenhuma outra alteração hepática ou cardíaca que corroborasse esse resultado. A avaliação ultrassonográfica não evidenciou alterações de tamanho e ecogenicidade dos órgãos, como fígado e pâncreas, não revelando acúmulo anormal de gordura no fígado. Desse modo, pode-se concluir que a fonte herbal de colina pode substituir o cloreto de colina na nutrição de cães.

Palavras-chave: Vitamina. Morfologia hepática. Metabolismo lipídios.

ABSTRACT

Choline is considered an essential nutrient for animals and its usual form of supplementation is choline chloride. However, choline chloride is highly hygroscopic, making it difficult to manufacture diets. Thus, the objective was to evaluate the effects of the use of an herbal source of choline on the apparent digestibility coefficients (CDA) and diet palatability, fecal characteristics, blood variables and liver and cardiac function of dogs. Sixteen Beagle adult dogs (4.5 + 0.1 years) were feeding two diets: control, containing 0.28% choline chloride 60 and test, containing 0.14% from a source choline herbal for 44 days, distributed entirely at random. At the beginning and at the end of the experiment, blood was collect and the liver morphology was evaluate by ultrasound, the cardiac function was evaluate by echocardiogram. There were no changes in the digestibility and palatability of the diet, in the blood count and in the leukogram and in the fecal characteristics of the herbal choline or chloride choline fed animals ($P > 0.05$). However, dogs fed with herbal source of choline showed a reduction ($P < 0.05$) in total cholesterol and serum triglycerides and alkaline phosphatase (FA) and aspartate aminotransferase (ALT). In addition, dogs that consumed the herbal source of choline showed ($P < 0.05$) dilation of large vessels, such as vena cava and portal, but no other liver or cardiac alteration was found to corroborate this result. The ultrasound evaluation did not show changes in size and echogenicity of organs, such as liver and pancreas, not revealing abnormal accumulation of fat in the liver. Thus, it can be conclude that the herbal source of choline can replace choline chloride in dog nutrition.

Keywords: Vitamin, Liver morphology, Lipid metabolism.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I. AVALIAÇÃO DE FONTE HERBAL DE COLINA COMO ALTERNATIVA AO CLORETO DE COLINA NA DIETA PARA CÃES

FIGURA 1. FORMA MOLECULAR DA COLINA – TRÊS GRUPOS METIL.....	21
FIGURA 2. FORMA MOLECULAR DO CLORETO DE COLINA.....	22
FIGURA 3. FORMA MOLECULAR DA FOSFATIDILCOINA.....	22
FIGURA 4. FONTES VEGETAIS DE COLINA; <i>TRACHYSPERMUM AMMI</i> , <i>CITRULLUS COLOCYNTHIS</i> , <i>ACHYRANTHES ASPERA</i> E <i>AZADIRACHTA INDICA</i>	25

CAPÍTULO II – EFEITOS DE UMA FONTE HERBAL DE COLINA SOBRE A DIGESTIBILIDADE E PALATABILIDADE DA DIETA, PERFIL LIPÍDICO SANGUÍNEO, MORFOLOGIA HEPÁTICA E FUNÇÃO CARDÍACA EM CÃES

FIGURA 1. CRONOGRAMA DE FORNECIMENTO DAS DIETAS, COLETAS E ANÁLISES EXPERIMENTAIS.....	33
FIGURA 2. IMAGENS ULTRASSONOGRÁFICAS DE UM CÃO ALIMENTADO COM DIETA CONTENDO FONTE HERBAL DE COLINA, REPRESENTANDO DILATAÇÃO DA VEIA PORTA HEPÁTICA E AORTA ABDOMINAL, RESPECTIVAMENTE.....	39
FIGURA 3. PRIMEIRA ESCOLHA DAS DIETAS CONTENDO FONTE HERBAL DE COLINA E CONTROLE ($P>0,05$)	40
FIGURA 4. RAZÃO DE INGESTÃO DAS DIETAS CONTENDO FONTE HERBAL DE COLINA E CONTROLE ($P>0,05$)	40

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I. AVALIAÇÃO DE FONTE HERBAL DE COLINA COMO ALTERNATIVA AO CLORETO DE COLINA NA DIETA PARA CÃES

TABELA 1. DEFICIÊNCIAS VITAMÍNICAS, EXCESSOS E PRINCIPAIS FONTES DIETÉTICAS17

TABELA 2. SINAIS CLÍNICOS E LESÕES DA DEFICIÊNCIA DE COLINA EM DIFERENTES ESPÉCIES ANIMAIS24

CAPÍTULO II – EFEITOS DE UMA FONTE HERBAL DE COLINA SOBRE A DIGESTIBILIDADE E PALATABILIDADE DA DIETA, PERFIL LIPÍDICO SANGUÍNEO E FUNCIONALIDADE HEPÁTICA E CARDÍACA DE CÃES

TABELA 1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS DIETAS EXPERIMENTAIS (% COM BASE NA MATÉRIA SECA)32

TABELA 2. MÉDIAS DOS COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE APARENTE (CDA, %), ENERGIA METABOLIZÁVEL (EM, KCAL/KG) E CARACTERÍSTICAS FECAIS DE CÃES ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO CLORETO DE COLINA E FONTE HERBAL DE COLINA37

TABELA 3. MÉDIAS DAS VARÁVEIS SANGUÍNEAS DE CÃES ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO CLORETO DE COLINA E FONTE HERBAL DE COLINA38

TABELA 4. MEDIANAS (1º;3º QUARTIS) DE VARIÁVEIS ULTRASSONOGRÁFICAS DA REGIÃO ABDOMINAL DE CÃES ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO CLORETO DE COLINA E FONTE HERBAL DE COLINA39

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT	Aspartato aminotransferase
CDA	Coeficiente de digestibilidade aparente
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
EB	Energia bruta
EEA	Extrato etéreo em hidrólise ácida
EM	Energia metabolizável
EPM	Erro padrão da média
FA	Fosfatase alcalina
GGT	Gama glutamil transpeptidase
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HDL	<i>High density lipoproteins</i>
LDL	<i>Low density lipoproteins</i>
MS	Matéria seca
MM	Matéria mineral
MSf	Matéria seca fecal
NEM	Necessidade de energia metabolizável
PB	Proteína bruta
PF	Produção fecal
RI	Razão de ingestão
VCM	Volume corpuscular médio
VLDL	<i>Very low density lipoproteins</i>

SUMÁRIO

CAPÍTULO I. AVALIAÇÃO DE FONTE HERBAL DE COLINA COMO ALTERNATIVA AO CLORETO DE COLINA NA DIETA PARA CÃES

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	VITAMINAS.....	14
2.2	COLINA.....	19
2.3	PAPEL DA COLINA NO ORGANISMO.....	22
2.4	DEFICIÊNCIA DE COLINA	24
2.5	FONTE HERBAL DE COLINA ALTERNATIVA AO CLORETO DE COLINA.....	25
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	26
4	REFERÊNCIAS	27

CAPÍTULO II - EFEITOS DE UMA FONTE HERBAL DE COLINA SOBRE A DIGESTIBILIDADE E PALATABILIDADE DA DIETA, PERFIL LIPÍDICO, SAGUÍNEO, MORFOLOGIA HEPÁTICA E FUNÇÃO CARDÍACA EM CÃES

1	INTRODUÇÃO.....	31
2	MATERIAL E MÉTODOS	31
2.1	ANIMAIS E INSTALAÇÕES	32
2.2	DIETAS EXPERIMENTAIS	32
2.3	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	33
2.3.1	Digestibilidade.....	33
2.3.1.1	Características fecais.....	34
2.3.2	Análises sanguíneas	34
2.3.3	Ultrassonografia da região abdominal.....	35
2.3.4	Ecocardiograma e pressão arterial	35
2.3.5	Palatabilidade.....	35
2.3.6	Análise estatística	36
3	RESULTADOS	36
3.1	DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS FECAIS.....	36
3.2	ANÁLISES SANGUÍNEAS	37
3.3	ULTRASSONOGRAMA DA REGIÃO ABDOMINAL	38
3.4	ECOCARDIOGRAMA E PRESSÃO ARTERIAL	40
3.5	PALATABILIDADE.....	40
4	DISCUSSÃO.....	41

5	CONCLUSÃO	42
	REFERÊNCIAS	44
ANEXO I - CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS		

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

A colina é um nutriente essencial à estrutura e metabolismo celular (fosfatidilcolina e lecitina) e é precursora da acetilcolina, importante neurotransmissor. Ainda, desempenha papel fundamental no metabolismo dos lipídios, principalmente no fígado, sendo referida como fator lipotrópico, impedindo o acúmulo anormal de ácidos graxos no tecido hepático (lipidose hepática) (BERTECHINI, 2004).

As necessidades de colina para cães adultos variam de 164 a 189 g/100g de matéria seca da dieta (FEDIAF, 2018). Essas necessidades são usualmente supridas pela suplementação de cloreto de colina na dieta. Porém, o cloreto de colina apresenta algumas limitações práticas de uso, como alta higroscopicidade e corrosividade. Essas características dificultam o seu manuseio na fábrica de rações ou premix, podendo prejudicar a sua pré-mistura com outros microingredientes e acarretar na perda de vitaminas (MALLO e PAOLELLA, 2017). Desse modo, o estudo de fontes alternativas de colina torna-se necessário.

As plantas *Trachyspermum ammi*, *Citrullus colocynthis*, *Achyranthes aspera* e *Azadirachta indica* apresentam altas concentrações de fosfatidilcolina, sendo potenciais fontes alternativas ao cloreto. Além de não apresentarem as características indesejáveis do cloreto de colina, essas fontes podem inclusive ser empregadas em alimentos orgânicos ou com apelo comercial de natural (CHEN, 2007; CALDERANO, 2015). Estudos com frangos de corte já validaram a bioequivalência dessas fontes herbais, sendo 2,52 unidades para 1 unidade de cloreto de colina (FARINA et al, 2017). Entretanto, foi encontrado apenas um estudo em cães (MALLO & PAOLELLA, 2017), não havendo informações científicas suficientes para validar seu uso na dieta desses animais. Desse modo, o presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos do uso de uma fonte herbal de colina, sobre os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) e palatabilidade da dieta, características fecais, variáveis sanguíneas, morfologia hepática e função cardíaca em cães.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Vitaminas

Estudos na área de nutrição animal definem os limites mínimos ou limites máximos seguros de nutrientes para os diferentes estados fisiológicos. Tendo como principais

nutrientes as proteínas, gorduras, carboidratos, fibras, vitaminas e minerais necessários para manutenção e saúde dos animais de companhia (FRANÇA et al., 2010)

O termo "vitamina" foi proposto por Casmir Funk em 1912, quando ele descreveu uma classe de compostos contendo nitrogênio que eram "aminas vitais" (isto é, são vitais para a vida). Este termo mais tarde mudou para vitamina quando se descobriu que nem todos esses compostos continham nitrogênio. A descoberta, isolamento e a síntese de vitaminas ocorreu nos últimos 100 anos, embora os efeitos de sua deficiência, especificamente uma doença chamada escorbuto, tenham sido registrados desde 1150 a.C. A tiamina foi a primeira vitamina a ser nomeada, por extensão, outras substâncias que possuem função semelhante também são referidas como vitaminas (HAND et al., 2010).

Uma vitamina pode ser definida por suas características físicas e fisiológicas. Para que uma substância seja classificada como vitamina, ela deve ter cinco propriedades básicas: 1) deve ser um composto orgânico, 2) deve ser um componente da dieta, 3) deve ser essencial em quantidades mínimas para a normal função fisiológica, 4) sua ausência deve causar uma síndrome de deficiência e 5) não deve ser sintetizada em quantidades suficientes para suportar a normal função fisiologia (HAND et al., 2010).

As vitaminas representam um grupo de substâncias distintas quimicamente e exigidas em pequenas quantidades na dieta, podendo funcionar como precursores enzimáticos, ou coenzimas em muitos dos processos metabólicos (CORREIA et al., 2008).

Embora geralmente descritas como compostos orgânicos as vitaminas não são usadas como fontes de energia pelo organismo. Com poucas exceções, a maioria das vitaminas não podem ser sintetizadas pelo organismo e devem ser fornecidas pelo alimento (CASE, 2006).

São classificadas de acordo com a sua solubilidade, em lipossolúveis (solúveis em lipídeos e solventes orgânicos) e hidrossolúveis (solúveis em água). As vitaminas hidrossolúveis são representadas pelas vitaminas do complexo B (Tiamina - B1, Riboflavina - B2, Piridoxina - B6, Niacina, Cobalamina - B12, ácidos fólico, nicotínico e pantotênico, biotina e colina) e vitamina C, e as vitaminas lipossolúveis são as A, D, E e K (CORREIA et al., 2008).

Para cães e gatos, as únicas vitaminas essenciais solúveis em água são vitaminas do complexo B, porque os animais são capazes de sintetizar endogenamente a vitamina C a partir da glicose, diferentemente dos humanos. As fontes de vitaminas do complexo B incluem vísceras, grãos e leveduras. A vitamina B12 é a exceção porque deve vir de fontes de origem animal (FASCETTI; DELANEY, 2012).

As vitaminas do complexo B são eliminadas na urina, então não há limites máximos definidos, embora altas doses de niacina por exemplo, possam causar “rubor” devido a vasodilatação induzida por prostaglandina. A vitamina C é comumente usada em alimentos naturais para animais de companhia como antioxidante para benefícios potenciais dentro do organismo animal, bem como um componente de preservação natural utilizado juntamente a misturas de tocoferóis com objetivo de prevenir a oxidação / ranço da gordura. Porém, o excesso de vitamina C na dieta é levantada como uma preocupação em pacientes com histórico de urolitíase por oxalato de cálcio, pois pode aumentar a excreção urinária de oxalato (FASCETTI; DELANEY, 2012; NRC, 2006).

Para cães e gatos, as vitaminas lipossolúveis A, D e E são essenciais. A vitamina K, embora essencial, pode ser suprida em quantidades adequadas pela produção da flora intestinal.

As vitaminas têm funções fisiológicas diversas, podendo atuar como potenciadores ou cofatores em reações enzimáticas. Eles também desempenham um papel significativo na síntese de DNA, desenvolvimento ósseo, homeostase do cálcio, função ocular normal, integridade da membrana celular, coagulação sanguínea, eliminação de radicais livres, aminoácidos e metabolismo de proteínas e transdução de impulso nervoso.

Devido às diferenças de solubilidade em gordura e água e na estrutura química, as vitaminas são absorvidas no corpo através de uma variedade de meios. Vitaminas lipossolúveis requerem sais biliares e gorduras para formação de micelas e então, absorção, ocorrendo geralmente no duodeno e íleo, sendo transportada em conjunto com quilomícrons no fígado através do sistema linfático, por transporte passivo. Por outro lado, a maioria das vitaminas hidrossolúveis são absorvidos através do transporte ativo. Algumas vitaminas (por exemplo, cobalamina) requerem uma proteína transportadora chamada “fator intrínseco” enquanto outros precisam de um meio dependente de sódio (HAND et al., 2010).

A deficiência é caracterizada pela falta de determinada vitamina na quantidade necessária para desempenhar sua função fisiológica normal, podendo induzir ao mau funcionamento do organismo (avitaminoses) e ao aparecimento de doenças específicas como beribéri, escorbuto e raquitismo (Tabela 1). Em geral, vitaminas lipossolúveis são armazenadas no tecido adiposo, tornando-os mais resistentes à deficiência, mas também mais susceptível de causar toxicidade. Por outro lado, vitaminas solúveis em água são esgotadas a uma taxa mais rápida devido ao armazenamento limitado; assim sendo, elas são menos propensas a causar toxicidade, por outro lado, mais propensas a serem agudamente deficientes (FASCETTI; DELANEY, 2012).

TABELA 1. DEFICIÊNCIAS VITAMÍNICAS, EXCESSOS E PRINCIPAIS FONTES DIETÉTICA

VITAMINAS	DEFICIÊNCIA	EXCESSO	FONTES
A	Crescimento prejudicado, falha reprodutiva, problemas cutâneos	Anormalidades esqueléticas	Óleos de fígado de peixe, leite, fígado, gema de ovo
D	Raquitismo, osteomalácia,	Calcificação, reabsorção óssea	Fígado, alguns peixes, gema de ovo, luz solar
E	Insuficiência reprodutiva	Não tóxico, pode aumentar requerimento de vit A e D	Germe de trigo, milho e óleo de soja
K	Aumento do tempo de coagulação, hemorragia	Não reportado	Folhas verdes, peixes
Tiamina (B1)	Disfunção do SNC, anorexia, perda de peso	Não tóxica	Carne, germe de trigo
Riboflavina (B2)	Disfunção do SNC, dermatoses	Não tóxica	Leite, legumes
Niacina (B3)	Doença da língua negra	Não tóxica	Carne, legumes, grãos
Piroxidina (B6)	Anemina	Não reportado	Peixe, trigo
Ácido pantotênico	Anorexia, perda de peso	Não reportado	Fígado, rim, produtos lácteos, leguminosas
Biotina	Dermatoses	Não tóxica	Ovo, fígado, leite
Ácido Fólico	Anemia, leucopenia	Não tóxica	Fígado, rim
Cobalamina(B 12)	Anemia	Não tóxica	Carne, peixe

Colina	Disfunção neurológica, lipidose hepática	Diarréia	Gema de ovo, vísceras, produtos lácteos
C – Ac. Ascórbico	Não requerido por cães e gatos	Não tóxica	Frutas cítricas, vegetais escuros

FONTE: Adaptado de CASE (2011).

De acordo com o NRC (2006) as deficiências vitamínicas foram reconhecidas pela primeira vez em animais a 75 anos atrás, e os cães tiveram papel crucial na descoberta e diferenciação das vitaminas A e D. Também foram usados em ensaios de alimentos humanos para a niacina. Apesar de anos terem se passado, requisitos quantitativos para muitas das vitaminas ou não foram determinados ou foram determinados para apenas um estado fisiológico.

As exigências vitamínicas podem ser afetadas por diversos fatores, Ritt (2017) aponta que os diferentes estágios de desenvolvimento dos animais, por exemplo, são um fator relevante, pois o crescimento e reprodução aceleram os gastos por parte dos tecidos e, desta forma, exigem maiores quantidades de nutrientes (incluindo vitaminas) para desempenho ótimo.

A idade também se mostrou ser uma condição relevante, pois a medida que os animais envelhecem, alterações metabólicas e fisiológicas podem levar a aumentos nas exigências de algumas vitaminas. Condições sanitárias do animal também contribuem para alterações das exigências de vitaminas. Animais que experimentam longos períodos de anorexia, têm privações no aporte de vitaminas e, sofrem depleção de suas reservas. Transtornos metabólicos, como a diabetes mellitus bem como doenças renais, podem acarretar em elevação da excreção de vitaminas hidrossolúveis. Terapias diuréticas também têm poder de elevar a excreção de vitaminas hidrossolúveis. Adicionalmente, transtornos renais podem levar a deficiência secundária de vitamina D (HAND et al., 2010).

As necessidades de vitaminas na dieta são dependentes de uma série de fatores como; temperatura ambiente, nível de energia ração, destruição nos alimentos e no trato digestivo (CORREIA et al, 2008). São compostos bastante sensíveis podendo ser degradadas por vários fatores, como temperatura, presença de oxigênio, luz, umidade, pH, duração do tratamento a que foi submetido o alimento, entre outros (KOEPPPEL, 2004).

A estimativa do conteúdo vitamínico nos alimentos e, em última instância, a adequação de determinado alimento é imprecisa, devido a erros acumulados na estimativa e disponibilidade das vitaminas. Estes erros são compostos por: a) erros analíticos de amostragem e determinação/quantificação da vitamina; b) variação na quantidade real da vitamina (variação do lote, efeitos sazonais, dados demográficos, diferentes cultivares); c) presença de vitaminas em formas vinculadas em muitos alimentos; d) perdas vitamínicas no armazenamento e; e) perdas vitamínicas no processamento. Todos estes fatores dificultam a definição de um nível de aporte vitamínico ideal para cada estágio de desenvolvimento dos animais, bem como o nível de vitaminas nos alimentos. O que nos leva a necessidade de adição de suplementos vitamínicos às dietas dos animais. A quase totalidade dos alimentos comerciais para cães e gatos contém vitaminas suplementadas, pois, formular uma ração que atenda por completo às exigências vitamínicas partindo unicamente das fontes de vitaminas dos ingredientes é bastante difícil, acarretando em risco de deficiência de determinadas vitaminas (RITT, 2017).

2.2. Colina

A colina foi isolada em 1849 por um estudioso chamado Strecker na bile de suínos. Em função de ter sido isolada da bile, recebeu o nome de colina, devido aos ácidos biliares chamados ácidos cólicos. Em 1867 sua estrutura foi determinada por Bayer, como um componente de amônio quaternário β – hidroxietil-trimetilamônio hidróxido, sendo um composto caracterizado por radical nitrogênio trimetil quaternário. Um pouco mais tarde em 1932, foi descoberto o fator lipotrópico da colina por Comb e Gerald, relacionados à transferência de grupos metil, inter-relações e efeitos poupadores de colina em metionina e vitamina B12 na dieta, estimulando assim o interesse por seu papel nutricional (GOMES, 2011; MCDOWELL, 2000).

Em 1940, Jukes mostrou que a colina é necessária para o crescimento normal e a prevenção da perose, uma desordem nas pernas dos perus. O autor descobriu que a quantidade necessária para evitar a perose foi maior do que a necessária para crescimento normal. Também, descobriu-se que a colina é necessária para impedir a enfermidade chamada "perna coberta" em suínos nas décadas de 1950 e 1960. Mais recentemente, a colina foi considerada eficaz para várias condições humanas que envolvem mobilização de lipídios hepáticos (MCDOWELL, 2000).

A colina, embora também seja chamada de vitamina B4, não satisfaz totalmente a definição estrita de uma vitamina. Devido ao fato de não participar no metabolismo como coenzima, servindo para a síntese de lecitina e de outros fosfolipídeos que participam da estrutura das células e consequentemente dos tecidos, além de ser exigida em quantidades muito superiores às outras vitaminas do complexo B (BERTECHINI, 2004; ZEISEL et al., 1991).

Os animais são capazes de sintetizar colina no fígado por metilação da etanolamina, componente presente no aminoácido serina, em uma reação catalisada por uma enzima que possui o piridoxal fosfato como coenzima. A etanolamina é metilada a monometiletanolamina, que por sua vez é metilado a dimetiletanolamina. A dimetiletanolamina é posteriormente metilada a colina. Tal processo ocorre em duas etapas e envolve duas metiltransferases (NRC, 2006). A metionina também participa na biossíntese da colina pela doação de grupos metílicos, desde que este aminoácido esteja presente na dieta em quantidades satisfatórias. Alimentos deficientes em proteína e/ou metionina podem afetar as exigências de colina (SANTOS & PEREIRA, 2010).

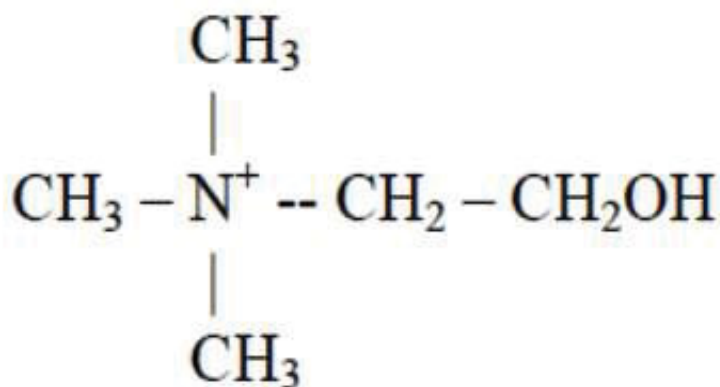
A colina está presente na dieta principalmente na forma de lecitina, com menos de 10% presente como colina livre ou esfingomielina. A colina é liberada da lecitina por hidrólise no lúmen intestinal. As secreções pancreáticas e as células da mucosa intestinal contêm enzimas capazes de hidrolisar a lecitina da dieta. Após absorvida, a colina é transportada para a circulação linfática principalmente na forma de lecitina, sendo conduzida predominantemente na forma de fosfolipídios associados às lipoproteínas plasmáticas, estando presente em todos os tecidos como um componente essencial dos fosfolipídios. Todos os órgãos acumulam colina, mas a absorção pelo fígado, rim, glândula mamária, placenta e cérebro são de especial importância (MCDOWELL, 2000).

A colina é um composto solúvel em água e álcool e insolúvel em solventes orgânicos, é uma base forte que se decompõe em solução alcalina (SHARMA & RANJAN, 2015). Apenas um terço da colina ingerida parece ser absorvida intacta, os dois terços restantes são metabolizados por microrganismos intestinais a trimetilamina, elemento formado a partir da ação de enzimas de bactérias no intestino, o qual será excretado na urina entre 6 e 12 horas após o consumo (MCDOWELL, 2000). A trimetilamina é uma amina alifática de cadeia curta. Este metabolito é encontrado em altas concentrações em peixes e, é responsável pelo odor característico dos frutos do mar (ARAÚJO et al., 1975).

A colina livre pode ser oxidada pela enzima mitocondrial colina desidrogenase para produzir betaína aldeído, que é então convertido pela enzima citosólica betaína aldeído desidrogenase para betaína. A betaína é a fonte real de grupos metil. Somente uma pequena fração de colina é acetilada, mas essa quantidade forma o importante neurotransmissor acetilcolina. Esta etapa envolve a reação da colina com a acetil CoA e é catalisada pela colina acetiltransferase localizada nos terminais nervosos colinérgicos, bem como em outras tecidos não nervosos (por exemplo, placenta) (MCDOWELL, 2000)

A característica proeminente de sua estrutura química é o seu trio de grupos metil, o qual possibilita servir como um doador de grupos metílicos (Figura 1). A colina pura é um líquido viscoso altamente alcalino, sendo a forma usual de suplementação nas rações de monogástricos o cloreto de colina (apresenta de 60 a 70% de colina) (GOMES, 2011).

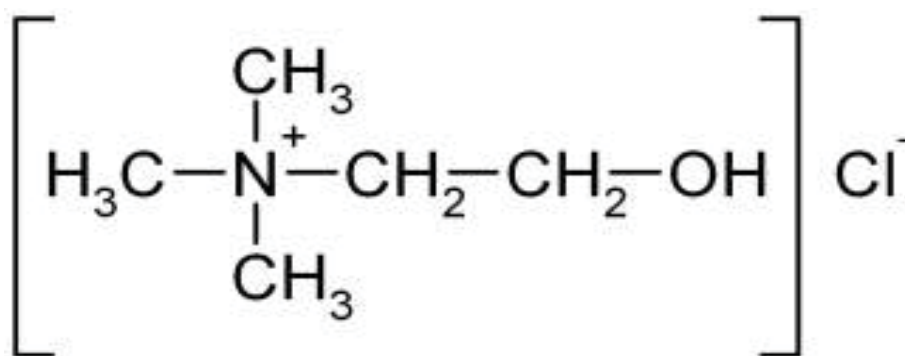
FIGURA 1. FORMA MOLECULAR DA COLINA – TRÊS GRUPOS METIL



FONTE: Santos & Peireira (2014).

O cloreto de colina (Figura 2) possui característica higroscópica, ou seja, absorve umidade do ar, podendo resultar em perdas de vitaminas solúveis em água quando adicionadas a pré-misturas, pois aumenta o teor de água livre no meio, resultando em maior potencial reativo (FARINA et al., 2017). Além disso, essa característica causa problemas operacionais na fábrica de ração, uma vez que o produto pode formar grumos (LISBOA et al., 2014).

FIGURA 2. FORMA MOLECULAR DO CLORETO DE COLINA:



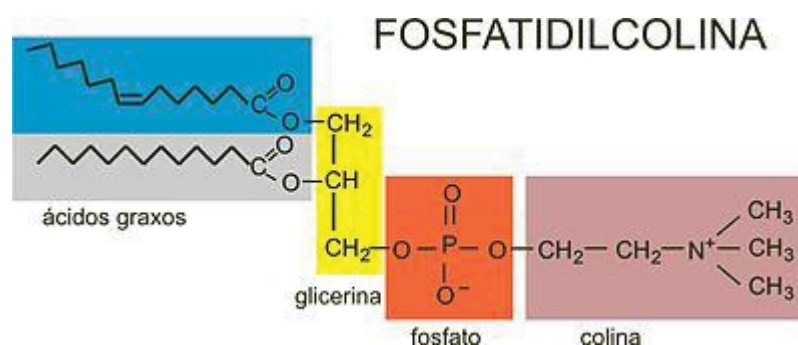
FONTE: Santos & Peireira (2014).

2.3. Papel da Colina no organismo

A colina está amplamente distribuída na natureza como colina livre, acetilcolina, ou como compostos complexos de fosfolipídeos (lecitina) e seus intermediários metabólicos. É absorvida principalmente no intestino, mas pouco se sabe sobre sua eficiência absorptiva, visto que pode ser degradada pela microbiota intestinal a trimetilamina. Sendo a colina depositada na carne, ovos ou excretada via urina aproximadamente 6 a 12 horas após o consumo (NRC, 2006; GOMES, 2011).

Como papel bioquímico, a colina participa da síntese de fosfolipídeos (lecitina e fosfatidilcolina), esfingomielina e acetilcolina (Figura 3). A lecitina participa da absorção e transporte das gorduras para o fígado e da posterior mobilização e transporte das gorduras hepáticas, sendo um componente do VLDL (*Very Low density lipoproteins*). A mobilização de triacilglicerol do fígado e sua entrega aos tecidos é principalmente feita pelos VLDL.

FIGURA 3. FORMA MOLECULAR DA FOSFATIDILCOLINA



FONTE: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/f/f8/Fosfatidilcolina_miguelferig.jpg/400px-Fosfatidilcolina_miguelferig.jpg

A colina desempenha um papel essencial no metabolismo das gorduras no fígado, Best et al (1935) em um experimento conduzido com cães depauperatizados relataram a importância da colina na dieta para a prevenção de lipidose hepática. Os mesmos resultados foram encontrados mais tarde em ratos e aves (BERTECHINI, 2004; ZEISEL, 1981). Devido a função básica da colina na estrutura da membrana celular, a sua deficiência é manifestada em uma variedade de funções relacionadas aos fosfolípidios, como previamente comentado, além de lesões nos rins e comprometimento do metabolismo das lipoproteínas. A colina é, portanto, referida como um fator lipotrópico, devido à sua função de atuar no metabolismo dos lípidios, acelerando a remoção ou diminuindo a deposição de gordura no fígado (HAND et al., 2010; MCDOWELL, 2000). Em situações de deficiência de colina, a capacidade do fígado para sintetizar a fosfatidilcolina está diminuída, culminando assim no acúmulo de lípidos (BERTECHINI, 2004).

A colina também participa da formação das membranas celulares e organelas celulares. O fator ativador de plaquetas é uma colina-fosfolípido, que além de ativar a agregação plaquetária, está envolvido com alterações na permeabilidade vascular, fagocitose e glicogenólise (NRC, 2006).

Outro papel principal importante da colina é fornecer grupos metil ativos para reações de metilação, podendo ser convertida a betaína. A betaína é uma doadora de grupos metil para muitas reações de transmetilação na síntese de metionina, a partir da homocisteína; da creatina, a partir de ácido guanidinoacético e síntese de trimetil-lisina, para a síntese de carnitina. Grupos metil também participam da síntese de purina e pirimidina, que são usadas na produção de DNA. Nesse processo a metionina é convertida em S-adenosilmetionina em uma reação catalisada por metionina adenosil transferase. A S-adenosilmetionina é o agente metilante ativo para muitas metilações enzimáticas (MCDOWELL, 2000).

Somente uma pequena fração da colina é acetilada, mas que gera o importante neurotransmissor acetilcolina (SANTOS & PEREIRA, 2010). A colina é essencial para a formação da acetilcolina, que é a substância mediadora da atividade nervosa, sendo responsável pela transmissão dos estímulos nervosos, produzida a partir da colina e do ácido acético. A reação é realizada em duas etapas; na primeira o ácido acético reage com a coenzima A na presença de ATP, para formar o acetil - CoA, numa reação catalisada pela acetil tioquinase. Na segunda reação dá-se a acetilação da colina pela acetil-CoA, na presença de colina acetilase (GOMES, 2016). A acetilcolina funciona como mediador químico nos nervos parassimpáticos e nos nervos motores destinados aos músculos esqueléticos, possibilitando a transmissão de impulsos nervosos de fibras pré-sinápticas a

pós-sinápticas do sistema nervoso simpático e parassimpático. Por exemplo, a acetilcolina liberada estimula o nervo vago causando uma diminuição dos batimentos cardíacos (MCDOWELL, 2000; BERTECHINI, 2004).

2.4. Deficiência de Colina

Estudos feitos em 1935 pelos pesquisadores Best e Huntsman demonstraram que a deficiência de colina em cães foi associada com uma perda de peso corporal, vômito, aumento do conteúdo de gordura no fígado e morte. Em 1945 McKibbin et al. também relataram que a deficiência de colina na dieta resultou em diminuição da ingestão de alimentos, ganho de peso e acúmulo de gordura no fígado dos cães (NRC, 2006).

Em geral a deficiência na maioria das espécies animais é caracterizada pelo crescimento deprimido, esteatose hepática e degeneração hemorrágica renal (Tabela 2) (GOMES, 2011). Sinais adicionais de deficiência de colina em cães incluem atrofia tímica, fosfatase alcalina plasmática elevada e aumento do tempo de protrombina no sangue (HAND et al., 2010).

TABELA 2. SINAIS E LESÕES DA DEFICIÊNCIA DE COLINA EM DIFERENTES ESPÉCIES ANIMAIS

Sinais e lesões	Cães	Suínos	Aves	Ratos
Fígado gorduroso	X	X	X	X
Cirrose	X			X
Hemorragia renal		X		X
Diminuição no crescimento	X	X	X	X
Anemia	X	X		X
Esclerose arterial	X		X	X

FONTE: Adaptado de MCDOWELL (2000).

Para cães adultos em manutenção, a cada 1.000 kcal de energia metabolizável da dieta, a exigência de colina mínima descrita varia entre 340 mg (NRC, 2006), 600 mg (AAFCO, 2014) e 474 mg (FEDIAF, 2018). Estes valores não são supridos quando se utiliza somente os macros ingredientes convencionais dos alimentos extrusados, sendo necessária à sua suplementação. Como já comentado, a fonte sintética tradicional é o cloreto de colina, porém, apresenta desvantagens tecnológicas ao incluí-las em pré-misturas devido suas propriedades físico-químicas (MALLO & PAOLELLA, 2017).

2.5. Fonte Herbal de colina alternativa ao cloreto de colina

A fonte herbal de colina pode ser encontrada nas plantas; *Trachyspermum ammi*, *Citrullus colocynthis*, *Achyranthes aspera* e *Azadirachta indica* (Figura 4). Embora não se tenha muitos estudos em animais de companhia, tem sido utilizada com sucesso em frangos de corte e galinhas poedeiras, demonstrando resultados favoráveis na conversão alimentar e na produção e peso de ovos (CHEN, 2007; CALDERANO, 2015).

FIGURA 4. FONTES VEGETAIS DE COLINA; *TRACHYSpermum AMMI*, *CITRULLUS COLOCYNTHIS*, *ACHYRANTHES ASPERA* E *AZADIRACHTA INDICA*, RESPECTIVAMENTE



FONTE: en.wikipedia.org/wik. Acesso em 27/11/2019

Um estudo realizado por Farina et al (2017) com frangos de corte suplementados com diferentes níveis de colina na dieta, propôs uma bioequivalência da fonte herbal, mostrando que uma unidade da mesma equivale a 2,52 unidades de colina suprida na forma de cloreto de colina 60.

Mallo e Paoletta (2017) conduziram um estudo com 40 cães da raça beagle, com intuito de avaliar três dietas, uma com inclusão da fonte herbal de colina, outra com o cloreto de colina, e a terceira controle negativo. Os autores observaram que não houve diferenças

significativas em relação a preferência dos cães pelas dietas, a qualidade e a quantidade de fezes não foram modificadas, e também não foram encontradas diferenças no perfil protéico sanguíneo (proteinemia, albuminemia e creatinemia). No entanto, houve diminuição dos valores de triglicerídeos e HDL nas dietas com suplementação de colina em relação a controle negativo ($p > 0,05$).

A fonte herbal de colina pode ser empregada em alimentos orgânicos, que é um nicho mercadológico em expansão. Visto que a Instrução Normativa Nº 46 do Ministério de Agricultura e Abastecimento, proíbe o uso de vitaminas obtidas por processos sintéticos em alimentos orgânicos, a colina herbal pode ser uma fonte alternativa para essa classe de alimentos.

Além dos fatores citados acima, a fonte herbal de colina não possui características químicas corrosivas, sendo de fácil manuseio. Em adição, promove menores perdas de outras vitaminas quando conjugadas, diferente do cloreto de colina devido à sua higroscopicidade. Apesar disso, ainda há poucos estudos com cães que validem o seu uso.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora maiores estudos em animais de companhia sejam necessários para validar o uso da fonte herbal de colina em relação ao cloreto de colina, as pesquisas realizadas até o presente momento com outras espécies se mostraram promissoras. Corroborando com a hipótese de que a fonte herbal de colina pode trazer características semelhantes ou até melhores aos da fonte sintética.

REFÊRENCIAS

- ARAÚJO, G. A.; VIEIRA, G. H. F.; VIEIRA, R. H. S. F.; TELLES, F. J. S. Redução do óxido de trimetilamina por bactérias. **Arquivos de Ciência**, p. 101-103, 1975.
- ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS - AAFCO. Association of American Feed Control Officials, 2003.
- BERTECHINI, A.G. Nutrição de Monogástricos – Lavras :Editora UFLA/FAEPE, p. 450, 2004.
- BEST, C. H.; FERGUSON, G. C.; HERSEY, J. M. Choline and liver fat n diabetic dogs. Department of physiology, **University of Toronto**, 1935.
- CALDERANO, A. A.; NUNES, R. V.; RODRIGUEIRO, R. J. B.; CÉSAR, R. A. Replacement of choline chloride by a vegetal source of choline in diets for broilers. **Ciência animal brasileira**, v.16, n.1, p. 37-44, 2015.
- CARCIOFI, A. C.; JEREMIAS, J. T. Progresso científico sobre nutrição de animais de companhia na primeira década do século XXI. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.35-41, 2010.
- CASE, L.P. **Canine and Feline Nutrition-** A resource for Companion Animals Professionals. 3rd edição, Elsevier, 2011
- CORREIA, L.F.M.; FARAONI, A.S.; PINHERO-SANT'ANA, H. M. Efeitos do processamento industrial de alimentos sobre a estabilidade de vitaminas. **Alimem. Nutr.** Araraquara, v.19, n.1, p. 83-95, 2008.
- FASCETTI, A.J.; DELANEY, S. J. **Applied Veterinary Clinical Nutrition**. 1. ed. West Sussex, Reino Unido: Wiley-Blackwell, p. 388, 2012.
- FARINA, G.; KESSLER, A. M.; EBLING, P. D.; MARX, F. R.; CÉSAR, R.; RIBEIRO, A. M. L. Performance of broilers fed different dietary choline sources and levels. **Ciência animinal brasileira**, Goiânia, v.18, p.1-14, 2017.
- FEDIAF. The European pet food industry. Disponível em: https://www.google.com/search?client=firefox&ei=B5sVW_mTJcaDwgTn7ZjgBQ&q=fediaf&oq=fediaf&gs_l=psyab.3...380630.381352.0.381583.0.0.0.0.0.0.0.0....0...1c.1.64.psy-ab..0.0.0....0.hkCEAjyRXLc
- FÉLIX, A. P.; OLIVEIRA, S. G.; MAIORKA, A. Principais aspectos relacionados à nutrição de cães e gatos. **Ciência Agrária Paranaense**. V.11, n. 2, p.05-21, 2012.
- FRANÇA, J.; SAAD, F. M. O. B.; SAAD, C. E. P.; SILVA, R. C.; REIS, J. S. Avaliação de ingredientes convencionais e alternativos em rações de cães e gatos. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.40, p.222-231, 2011.
- GOMES, B.; RODRIGUES, R.; ALVES, R.; DIAS, S.; OLIVEIRA, T. **Vitaminas na Nutrição de Monogástricos**. - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Tocantins. 2011.

- HAND, M. S.; THATCHER, C. D.; REMILLARD, R. L.; RODEBUSH, P.; NOVOTNY, B. J. **Small Animal Clinical Nutrition**. 5. ed. Texas, EUA: Mark Morris Institute, p 745, 2010.
- LISBOA, M. M.; FARIAS FILHO, R. V.; PEREIRA, M. M. S.; SILVA, J. W. D. Uso de Colina na Avicultura. **Revista Eletrônica Nutritime**. Art. 278, v. 11, n. 06, p. 3755- 3759.
- MALLO, G.D.; PAOLELLA, M. **Fuente Herbal de Colina em nutrición canina**. Congresso Argentino de Nutrição Animal, Buenos Aires, 2017.
- MCDOWELL, L.R. **Vitamins in animal and human nutrition**, 2nd edição, Academic Press, 2000.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. Nutrient Requirements of Dogs. National Academy Press. Washington, p. 428, 2006.
- RITT, L. A. Principais deficiências vitamínicas em cães e gatos. Disciplina de Fundamentos Bioquímicos dos Transtornos Metabólicos, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 15 , 2017.
- SANTOS, J. L.; PEREIRA, M. M. Utilização de colina em dietas para monogástricos. **PUBVET**, Londrina, v. 4, n. 1, Ed. 106, Art. 716, 2010.
- SHARMA, A.; RANJAN, S. Effect of herbal and chemically synthetic choline on physio-biochemical characteristics of chicks. **Journal of Global Biosciences**, v. 4, 2015.
- ZEISEL, S.H.; COSTA, K.; FRANKLIN, P. D.; ALEXANDER, E. A.; LAMONT, J. T.; SHEARD, N. F.; BEISER, A. Choline, an essential nutrient for humans. **Nutrition review**. p. 615 -623, 1991.
- ZEISEL, S.H. Dietary choline: biochemistry, physiology, and pharmacology. **Annual Review of: Nutrition**, v.1, p.95-121, 1981.

CAPITULO II – EFEITOS DE UMA FONTE HERBAL DE COLINA SOBRE A DIGESTIBILIDADE E PALATABILIDADE DA DIETA, PERFIL LIPÍDICO SANGUÍNEO, MORFOLOGIA HEPÁTICA E FUNÇÃO CARDÍACA EM CÃES

RESUMO

Objetivou-se avaliar os efeitos do uso de uma fonte herbal de colina, sobre os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) e palatabilidade da dieta, características fecais, variáveis sanguíneas, morfologia hepática e função cardíaca em cães. Foram utilizados 16 cães adultos ($4,5 \pm 0,1$ anos) da raça Beagle, os quais foram alimentados com duas dietas: controle, contendo 0,28% de cloreto de colina 60 e teste, contendo 0,14% de uma fonte herbal de colina durante 44 dias. No início e final do experimento foi coletado sangue e avaliada, por ultrassonografia, a morfologia hepática e por ecocardiograma a função cardíaca dos cães. Não houve alterações na digestibilidade e palatabilidade da dieta, no hemograma e leucograma e nas características fecais dos animais alimentados com o cloreto de colina ou colina herbal ($P > 0,05$). Entretanto, os cães alimentados com a fonte herbal de colina apresentaram redução ($P < 0,05$) no colesterol total e triglicerídeos séricos e na fosfatase alcalina (FA) e aspartato aminotransferase (ALT). Ainda, os cães que consumiram a fonte herbal de colina apresentaram ($P < 0,05$) dilatação de grandes vasos, como veia cava e porta, mas não foi observada nenhuma outra alteração hepática ou cardíaca que corroborasse esse resultado. A avaliação ultrassonográfica não evidenciou alterações de tamanho e ecogenicidade dos órgãos, como fígado e pâncreas, não revelando acúmulo anormal de gordura no fígado. Desse modo, pode-se concluir que a fonte herbal de colina pode substituir o cloreto de colina na nutrição de cães.

Palavras-chave: vitamina, morfologia hepática, metabolismo lipídios

EFFECTS OF A HERBAL SOURCE OF CHOLINE ON DIET DIGESTIBILITY AND PALATABILITY, BLOOD LIPID PROFILE, HEPATIC AND HEART FUNCTIONALITY IN DOGS

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effects of the use of an herbal source of choline on the apparent digestibility coefficients (CDA) and diet palatability, fecal characteristics, blood variables and liver morphology and cardiac function of dogs. Sixteen Beagle adult dogs (4.5 ± 0.1 years) were feeding two diets: control, containing 0.28% choline chloride 60 and test, containing 0.14% from a source choline herbal for 44 days. At the beginning and at the end of the experiment, blood was collect and the liver morphology was evaluate by ultrasound, the cardiac function was evaluate by echocardiogram. There were no changes in the digestibility and palatability of the diet, in the blood count and in the leukogram and in the fecal characteristics of the herbal choline or chloride choline fed animals ($P > 0.05$). However, dogs fed with herbal source of choline showed a reduction ($P < 0.05$) in total cholesterol and serum triglycerides and alkaline phosphatase (FA) and aspartate aminotransferase (ALT). In addition, dogs that consumed the herbal source of choline showed ($P < 0.05$) dilation of large vessels, such as vena cava and portal, but no other liver or cardiac alteration was found to corroborate this result. The ultrasound evaluation did not show changes in size and echogenicity of organs, such as liver and pancreas, not revealing abnormal accumulation of fat in the liver. Thus, it can be conclude that the herbal source of choline can replace choline chloride in dog nutrition.

Keywords: vitamin, liver morphology, lipid metabolism.

1. INTRODUÇÃO

Considerada um nutriente essencial, a colina faz parte da estrutura e metabolismo celular dos fosfolipídeos (fosfatidilcolina e lecitina), além de ser precursora da acetilcolina, importante neurotransmissor. Ainda, desempenha papel fundamental no metabolismo dos lipídios, principalmente no fígado, sendo referida como fator lipotrópico, impedindo o acúmulo anormal de ácidos graxos no tecido hepático (esteatose hepática) (BERTECHINI, 2004).

As necessidades de colina para cães adultos variam de 164 a 189 g/100g de matéria seca da dieta (FEDIAF, 2018). A forma usual de suplementação nas dietas para cães, é o cloreto de colina, porém, este apresenta algumas limitações práticas de uso, como alta higroscopicidade e corrosividade, podendo dificultar o seu manuseio na fábrica de rações ou premix, prejudicando assim a sua pré-mistura com outros microingredientes e acarretar na perda de outras vitaminas (MALLO & PAOLELLA, 2017). Desse modo, o estudo de fontes alternativas de colina se mostra necessário.

As plantas *Trachyspermum ammi*, *Citrullus colocynthis*, *Achyranthes aspera* e *Azadirachta indica* apresentam relativas altas concentrações de fosfatidilcolina, sendo potenciais fontes alternativas ao cloreto. Além de não apresentarem as características indesejáveis do cloreto de colina, essas fontes podem inclusive ser empregadas em alimentos orgânicos ou com apelo comercial de natural (CHEN, 2007; CALDERANO, 2015). Estudos com frangos de corte já validaram a bioequivalência dessas fontes herbais, sendo 2,52 unidades para 1 unidade de cloreto de colina (FARINA et al, 2017). Entretanto, foi encontrado apenas um estudo em cães (MALLO & PAOLELLA, 2017), não havendo informações científicas suficientes para validar seu uso na dieta desses animais. Desse modo, o presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos do uso de uma fonte herbal de colina, sobre os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) e palatabilidade da dieta, características fecais, variáveis sanguíneas e função hepática e cardíaca de cães.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Estudos de Nutrição Canina – LENUCAN, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Paraná (UFPR). O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, Brasil (023/2019).

2.1. ANIMAIS E INSTALAÇÕES

Foram utilizados 16 cães adultos ($4,5 \pm 0,1$ anos) da raça Beagle (8 machos e 8 fêmeas), com peso médio de $13,68 \pm 2,20$ kg, em boas condições corporais e clinicamente saudáveis. Estes foram alojados individualmente em baias de alvenaria (5 x 2 m) com abrigo e solário.

2.2. DIETAS EXPERIMENTAIS

Foram avaliadas duas dietas: controle, contendo 0,28% de cloreto de colina 60 e teste, contendo 0,14% da fonte herbal de colina (Biocholine Powder®, NutriQuest-Technofeed, Campinas, SP, Brasil). O produto comercial utilizado é um extrato herbal fonte de fosfatidilcolina das plantas: *Trachyspermum amni*, *Citrullus colocynthis*, *Achyranthus áspera* e *Azadirachta indica*. As quantidades de fontes suplementares de colina consideraram a necessidade mínima de cães adultos de 1640 mg de colina/kg de dieta (FEDIAF, 2018) e a bioequivalência da fonte herbal de colina, de aproximadamente 2,5 vezes a quantidade de cloreto de colina 60 (FARINA et al., 2017). As dietas foram formuladas para atender as necessidades de cães adultos em manutenção, segundo a FEDIAF (2018) e apresentaram a mesma formulação, variando apenas na inclusão das fontes de colina. As fontes de colina foram adicionadas junto com a massa na pré mistura. A composição química das dietas está apresentada na Tabela 1.

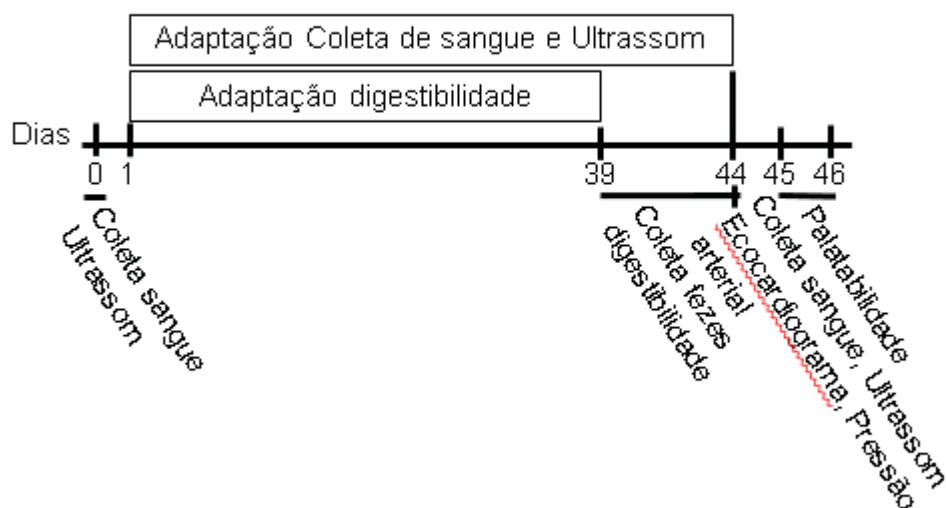
TABELA 1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS DIETAS EXPERIMENTAIS (% COM BASE NA MATÉRIA SECA).

Item	Controle	Fonte herbal
Matéria seca	94,53	94,60
Proteína bruta	27,77	27,94
Fibra bruta	3,85	3,37
Extrato etéreo HA	16,89	16,75
Matéria mineral	7,13	7,27
Cálcio	1,52	1,51
Fósforo	1,06	1,09
Energia Bruta (Kcal/kg)	5145,46	5120,51

2.3 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Cada oito cães (4 machos e 4 fêmeas) foram alimentados com uma das dietas durante 44 dias contínuos, nos quais foram realizadas coletas de fezes, sangue e análise ultrassonográfica, ecocardiograma e aferição da pressão arterial dos cães. Ainda, foi avaliada a palatabilidade das dietas ao final dos 44 dias, conforme descrito na Figura 1.

FIGURA 1. CRONOGRAMA DE FORNECIMENTO DAS DIETAS, COLETAS E ANÁLISES EXPERIMENTAIS.



2.3.1. DIGESTIBILIDADE

O ensaio de digestibilidade seguiu as recomendações da AAFCO (2004). Os animais foram alimentados duas vezes ao dia (8:30 e 16:30 horas) em quantidade suficiente para atender às suas necessidades de energia metabolizável (NEM) de acordo com a equação proposta pelo NRC (2006): $\text{kcal/dia} = 130 \times \text{peso (kg)}^{0,75}$. A água foi fornecida à vontade. As fezes foram coletadas nos 5 últimos dias experimentais (dias 39-44), confeccionando uma mistura composta das fezes de cada animal. As fezes foram coletadas, no mínimo duas vezes ao dia, pesadas e congeladas (-14°C) em recipientes individuais, identificados, constituindo um composto de fezes de cada animal. Após o período de coleta, as fezes foram descongeladas, homogeneizadas e secas em estufa de ventilação forçada a 55°C até o peso constante. Após a secagem, fezes e alimentos foram moídos com peneiras de crivos de 1 mm em moinho de martelos Willey (Arthur H. Thomas Co., Philadelphia, PA).

Assim como as dietas, as fezes foram analisadas para determinação dos teores de matéria seca (MS) à 105°C por 12 horas, proteína bruta (PB, método 954.01), fibra bruta (FB, método 962.10), extrato etéreo em hidrólise ácida (EEA, método 954.02) e matéria mineral (MM, método 942.05), segundo a AOAC (1995). A energia bruta (EB) foi determinada por bomba de calorimetria.

A energia metabolizável (EM) foi estimada segundo a AAFCO (2004). Com base nos resultados laboratoriais obtidos, foram determinados os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) das dietas: $CDA\% = ((g \text{ nutriente ingerido} - \text{nutriente excretado}) / g \text{ nutriente ingerido}) \times 100$.

2.3.1.1. CARACTERÍSTICAS FECAIS

As características fecais foram avaliadas por: teor de matéria seca total (MSf), produção de fezes (PF), pH e escore fecal. O escore fecal foi avaliado sempre pelo mesmo pesquisador, atribuindo-se notas de 1 a 5, sendo: 1 = fezes pastosas e sem forma; 2 = fezes macias e malformadas; 3 = fezes macias, formadas e úmidas; 4 = fezes bem formadas e consistentes; 5 = fezes bem formadas, duras e secas (CARCIOFI et al., 2009). O pH fecal foi mensurado por meio de um pHmêtro digital (331, Politeste Instrumentos de Teste Ltda, São Paulo, SP, Brasil), utilizando 3,0 g de fezes frescas diluídas com 30 mL de água destilada.

2.3.2. ANÁLISES SANGUÍNEAS

Ao início e final do experimento (44^o dia), foram coletadas amostras de sangue dos animais em jejum alimentar (12 horas), por meio de punção da jugular. Sendo 3 ml de sangue com anticoagulante EDTA para análise de hemograma completo e 3 ml de sangue sem anticoagulante para análise do soro. As variáveis avaliadas foram: número e concentração de hemácias e hemoglobina, leucócitos totais, albumina, globulina, proteínas plasmáticas e proteínas totais, por meio do método semiautomático CC – 530/ Microscopia. Também foram avaliadas as atividades das enzimas aspartato aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA) e gama glutamil transpeptidase (GGT) e os níveis séricos de colesterol total, LDL, HDL e triglicérides, por meio do método colorimétrico automatizado do Cobas Mira Plus Chemistry System®.

Para a mensuração de proteínas totais e albumina foi utilizado o kit químico comercial Dialab® e o equipamento de análises químicas BS-200 (Mindray Chemistry Analyser®). As análises hematológicas foram realizadas por meio do equipamento BC 2800 vet (Mindray Auto-Hematologic Analyzer®). As lâminas para contagem de células foram

coradas pelo método Panótipo Rápido. A determinação de globulina foi estimada matematicamente pela diferença obtida entre proteínas totais e albumina.

2.3.3. ULTRASSONOGRAFIA DA REGIÃO ABDOMINAL

O exame ultrassonográfico foi realizado nos dias 0 e 44 por examinador único experiente, com equipamento de ultrassom modelo Logic32 e transdutores multifrequenciais linear (6 a 10MHz) e convexo (2 a 5MHz). Previamente ao exame, foi realizada a tricotomia da região ventral abdominal. Os cães foram contidos fisicamente e posicionados em decúbito lateral direito, dorsal ou lateral esquerdo para avaliação do parênquima hepático nos cortes sagital/parasagital e transversal. Para essa avaliação foi utilizado métricas que variaram de grau 0 a 2, em relação ao tamanho hepático, sendo 0 = normal, 1 = aumentado (infiltração gordurosa/hepatopatia) e 2 = muito aumentado (hepatopatia); tamanho esplênico, sendo 0 = normal; 1 = aumentado (reacional) e 2 = muito aumentado (congestão/reacional) e ecogenicidade de órgãos parenquimatosos, sendo 0 = normal; 1 = ecogênico (mais claro) e 2 = hiperecogênico (fibrose tecidual).

2.3.4. ECOCARDIOGRAMA E PRESSÃO ARTERIAL

Foi realizado ecocardiograma e aferição da pressão arterial no último dia do experimento (44), com o equipamento para avaliação cardíaca Phillips Affinit 50, com transdutor de 3-8 MHz por profissional experiente. Para aferição da pressão arterial foi utilizado aparelho de Doppler vascular. O ecocardiograma foi realizado em decúbito lateral direito e esquerdo com eletrocardiograma acoplado, conforme as recomendações do colégio americano de medicina interna (THOMAS, 1994). Para o Doppler, os animais foram posicionados em decúbito lateral direito. Primeiramente, foi realizada tricotomia da região palmar metacarpal próxima ao coxim, onde o pulso era palpável.

2.3.5. PALATABILIDADE

O teste da palatabilidade foi realizado por meio da mensuração da razão de ingestão (RI) e da primeira escolha entre as dietas ofertadas aos cães. As dietas foram comparadas em pares, resultando no seguinte teste: dieta controle (cloreto de colina) vs. teste (fonte herbal).

O teste de palatabilidade foi realizado em dois dias consecutivos ao final do experimento (dias 45 e 46). Os dois alimentos a serem comparados foram oferecidos em dois comedouros diferentes uma vez ao dia, às 8:30 h, por um período de 30 min. A primeira escolha foi definida pelo registro do primeiro pote que o animal se aproximou durante a

oferta simultânea dos alimentos. Para determinação da razão de ingestão, as quantidades fornecidas e as sobras foram quantificadas permitindo o cálculo da variável pela seguinte equação: $RI = g \text{ ingeridas da dieta A ou B} / g \text{ totais consumidas (A+B)}$.

2.3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram previamente submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e de homocedasticidade das variâncias de Bartlett. Os dados de digestibilidade e características fecais foram analisados considerando um delineamento inteiramente ao acaso, com 8 repetições por tratamento. Os dados com distribuição normal foram analisados pelo teste t-Student, a 5% de significância. Os dados não paramétricos foram analisados pelo teste de Wilcoxon ($P < 0,05$).

Os dados sanguíneos foram analisados considerando um delineamento inteiramente ao acaso em parcelas subdivididas no tempo (parcelas = dietas e subparcelas = períodos inicial e final), totalizando 8 repetições por tratamento. Os dados com distribuição normal foram submetidos à Análise de variância (ANOVA) à 5% de probabilidade. Quando o teste F da ANOVA detectou interação entre as dietas x períodos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os dados ultrassonográficos, por serem não-paramétricos foram analisados pelo teste de Wilcoxon ($P < 0,05$). Os dados cardíacos e de pressão arterial foram analisados pelo teste t-Student ($P < 0,05$).

Para o teste de palatabilidade foi adotado um delineamento inteiramente casualizado, totalizando 32 repetições por teste (16 cães x 2 dias). Os dados de razão de ingestão foram analisados pelo teste t-Student e a primeira escolha pelo teste Qui-quadrado, ambos com 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS

3.1 DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS FECAIS

Os cães consumiram normalmente as dietas, não havendo diferença ($P > 0,05$) no consumo durante o experimento (Controle = $207,9 \pm 16,75$ g e fonte herbal de colina = $204,6 \pm 23,68$ g em média de MS/animal/dia). Do mesmo modo, não houve alteração no peso dos animais ao longo do estudo (peso médio inicial: Controle = $13,69 \pm 2,01$ kg e fonte herbal de colina = $13,68 \pm 2,11$ kg e peso médio final: Controle = $13,40 \pm 2,51$ kg e fonte herbal de colina = $13,42 \pm 2,60$ kg). Não houve episódios de vômito ou diarreia e nenhum animal precisou ser removido do estudo.

Os CDA e a EM das dietas e as características fecais não diferiram entre os tratamentos ($P > 0,05$, Tabela 2).

TABELA 2. MÉDIAS DOS COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE APARENTE (CDA, %), ENERGIA METABOLIZÁVEL (EM, KCAL/KG) E CARACTERÍSTICAS FECAIS DE CÃES ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO CLORETO DE COLINA E FONTE HERBAL DE COLINA.

Item	Controle	Fonte herbal	EPM	P
CDA				
Matéria seca	77,1	77,6	0,486	0,668
Matéria orgânica	80,5	81,0	0,424	0,565
Proteína bruta	82,4	83,4	0,346	0,172
Extrato etéreo	90,1	90,2	0,236	0,708
Energia bruta	81,5	82,5	0,443	0,556
EM	4168,1	4194,2	24,91	0,617
Características fecais				
pH	6,557	6,601	0,068	0,761
Matéria seca (%)	36,37	36,01	0,121	0,709
Escore	4	4	-	0,999

EPM: Erro padrão da média. Valores de P pelo teste t-Student ($P < 0,05$), com exceção do escore fecal, analisado pelo teste de Wilcoxon ($P < 0,05$).

3.2. ANÁLISES SANGUÍNEAS

Os resultados do hemograma e perfil bioquímico estão apresentados na Tabela 3. Não foram encontradas diferenças nos valores de LDL, GGT, proteínas totais, globulina e albumina entre os tratamentos ($P > 0,05$). Cães alimentados com a dieta contendo fonte herbal de colina apresentaram menor concentração de colesterol total, triglicerídeos e FA ($P < 0,05$), em relação aos animais do grupo controle no final do experimento, sendo que a ALT deu interação entre os períodos. Após 44 dias de alimentação, foi observada redução nos valores de HDL e aumento nos triglicerídeos, LDL e VLDL de todos os cães, independentemente dos tratamentos ($P < 0,05$).

No eritrograma foi observado diminuição dos valores de hemoglobina, hematócrito, VCM, HCM e CHCM após os 44 dias de alimentação ($P < 0,05$), independentemente da dieta. No leucograma houve aumento ($P < 0,05$) apenas nos monócitos na coleta final, independentemente do tratamento (Tabela 3).

TABELA 3. MÉDIAS DAS VARÁVEIS SANGUÍNEAS DE CÃES ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO CLORETO DE COLINA E FONTE HERBAL DE COLINA, NOS DIAS 0 A 44 DO EXPERIMENTO.

Item	Controle		Fonte herbal		EPM	P		
	Inicial	Final	Inicial	Final		Dieta (D)	Período (P)	D x P
Perfil bioquímico								
Colesterol (125- 270mg/dL)	172,55	215,5	157,95	170,07	7,69	0,042	0,062	0,271
HDL (33-120mg/dL)	140,08	108,31	123,62	103,34	4,30	0,153	0,001	0,431
LDL (58-187mg/dL)	16,71	93,25	19,06	68,24	7,74	0,264	<0,001	0,252
VLDL (6,5-16,9mg/dL)	9,86	8,28	15,73	12,41	0,98	0,171	0,008	0,621
Triglicerídeos (<150mg/dL)	46,66	63,81	41,35	50,06	2,57	0,042	0,006	0,342
ALT (10,0-102,0UI/L)	41,61 ^b	50,17 ^a	46,84 ^{ab}	41,76 ^b	1,78	0,373	0,342	0,019
FA (20-150,0UI/L)	65,76	49,31	60,40	33,43	3,10	0,027	<0,001	0,263
Gama GT (0-18UI/L)	2,25	2,36	2,51	0,98	0,23	0,194	0,094	0,064
Proteínas Totais (5,4-7,7g/dL)	6,04	6,31	6,03	6,15	0,05	0,734	0,832	0,321
Globulina (2,3-5,2g/dL)	2,63	2,74	2,59	2,63	0,04	0,421	0,392	0,672
Albumina (2,3-3,8g/dL)	3,41	3,56	3,44	3,53	0,03	0,922	0,061	0,632
Eritrograma								
Eritrócitos (5,5-8,5mi/μL)	6,21	6,21	6,51	6,022	0,08	0,771	0,122	0,123
Hemoglobina (12-18g/dL)	15,6	14,03	16,33	13,75	0,26	0,52	<0,001	0,152
Hematócrito (37-53%)	44,75	42,13	45,75	40,86	0,58	0,883	<0,001	0,211
VCM (60-77u ³)	72,23	67,94	70,57	67,96	0,61	0,482	0,007	0,472
HCM (19,5-24,5pg)	25,22	22,62	25,82	22,87	0,35	0,373	<0,001	0,723
CHCM (30-36%)	34,87	33,29	35,68	33,7	0,31	0,282	0,004	0,712
Leucograma								
Leucócitos (6.000-17.000/mm ³)	12,71	12,80	11,91	11,22	0,40	0,083	0,522	0,442
Neutrófilos (58-3.480/mm ³)	75,63	72,88	71,38	69,35	1,32	0,140	0,360	0,893
Linfócitos (12-720/mm ³)	19,9	19,27	25,51	22,38	1,09	0,060	0,351	0,532
Monócitos (0-180/mm ³)	3,50	5,13	2,23	5,38	0,47	0,371	0,002	0,213
Plaquetas (150.00-800.000/mm ³)	328,6	395,13	397,38	373,38	14,35	0,393	0,442	0,114
Prot. Plasmáticas (5,5-8,0g/dL)	6,58	6,83	6,72	6,55	0,09	0,444	0,054	0,474

3.3. ULTRASSONOGRAFIA DA REGIÃO ABDOMINAL

Não houve diferença para tamanho hepático, esplênico e na ecogenicidade dos órgãos parenquimatosos entre os animais e períodos ($P>0,05$, Tabela 4). No entanto, foram observadas alterações vasculares moderadas referentes a dilatação da veia cava hepática e aorta abdominal (grau 1), em cães alimentados com a dieta contendo fonte herbal de colina ($P<0,05$, figura 2).

TABELA 4. MEDIANAS (1º;3º QUARTIS) DE VARIÁVEIS ULTRASSONOGRÁFICAS DA REGIÃO ABDOMINAL DE CÃES ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO CLORETO DE COLINA E FONTE HERBAL DE COLINA.

Item	Controle		P	Fonte herbal		P	Final – inicial*		P
	Inicial	Final		Inicial	Final		Controle	Fonte herbal	
Tam. Hepático	0 (0;0,25)	0 (0;1,0)	1,000	0 (0;0,25)	0,5 (0;1,25)	0,248	0 (0;0,25)	0 (0;1,25)	0,727
Tam. Esplênico	0 (0;0,25)	0 (0;0,25)	1,000	0 (0;0,25)	0,5 (0;1,0)	0,282	0 (0;0)	0 (0;1,0)	0,174
Ecogenicidade OP	0 (0;0,25)	0,5 (0;0,25)	1,000	0 (0;1,0)	0,5 (0;1,0)	0,927	0 (0;0)	0 (0;0)	1,000
Dil. Veia Cava	0 (0;0)	0 (0;0)	1,000	0 (0;0)	1 (0,75;1,0)	0,015	0 (0;0)	1 (0,75;1,0)	0,015
Dil. Aorta Abd.	0 (0;0)	0 (0;0)	1,000	0 (0;0)	1 (0,75;1,0)	0,015	0 (0;0)	1 (0,75;1,0)	0,015
Vesícula biliar	0 (0;0)	0 (0;0)	1,000	0 (0;0,25)	0 (0;1,0)	0,595	0 (0;0)	0 (0;0,25)	0,405
Estômago	0 (0;0)	0 (0;0)	1,000	0 (0;0,25)	0 (0;1,0)	0,182	0 (0;0)	0 (- 0,25;1,0)	0,404
Pâncreas	0 (0;0)	0 (0;1,0)	0,901	0 (0;1,0)	0 (0;1,0)	0,922	0 (0;1,0)	0 (- 1,0;1,0)	0,688

*Medida final (dia 44) menos inicial (dia 0) de cada animal.

Tam = tamanho; OP = órgãos parenquimatosos; Dil = dilatação; Abd = abdominal.

0 = sem alterações de tamanho e/ou ecogenicidade; 1 = aumento de tamanho e/ou ecogenicidade e 2 = aumento significativo de tamanho e/ou ecogenicidade.

FIGURA 2. IMAGENS ULTRASSONOGRÁFICAS DE UM CÃO ALIMENTADO COM DIETA CONTENDO FONTE HERBAL DE COLINA, REPRESENTANDO DILATAÇÃO DA VEIA PORTA HEPÁTICA E AORTA ABDOMINAL, RESPECTIVAMENTE.



3.4. ECOCARDIOGRAMA E PRESSÃO ARTERIAL

Não houve diferença na pressão arterial (controle = 170 mmHg e fonte herbal de colina = 174 mmHg) e frequência cardíaca (controle = 128 bpm e fonte herbal de colina = 124 bpm) dos cães ($P>0,05$).

3.5. PALATABILIDADE

A primeira escolha e a razão de ingestão não diferiram entre as dietas ($P>0,05$, Figuras 3 e 4). Isso demonstra que a fonte herbal de colina foi bem aceita pelos cães.

FIGURA 3. PRIMEIRA ESCOLHA DAS DIETAS CONTENDO FONTE HERBAL DE COLINA E CONTROLE ($P>0,05$).

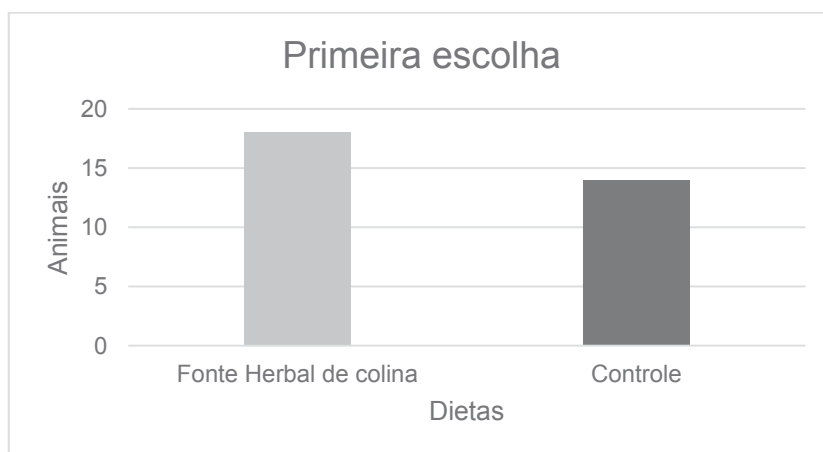
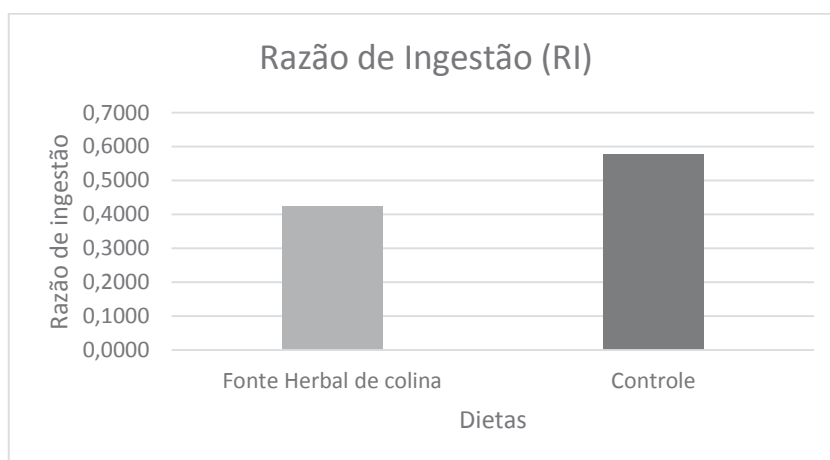


FIGURA 4. RAZÃO DE INGESTÃO DAS DIETAS CONTENDO FONTE HERBAL DE COLINA E CONTROLE ($P>0,05$).



4. DISCUSSÃO

Os resultados de digestibilidade e características fecais mostraram não haver influência da fonte herbal de colina sobre essas variáveis em cães. Portanto, a adição de colina herbal não altera o aproveitamento dos nutrientes em relação à dieta padrão utilizada. Resultados semelhantes foram encontrados por Mallo e Paoletta (2017) ao avaliar a mesma fonte herbal de colina em cães.

A dieta contendo a fonte herbal de colina contribuiu para a redução da FA e ALT séricos, embora os níveis tenham permanecido dentro da faixa considerada normal para cães (0,0 a 92,0 UI/L e 0,0 a 88,0 UI/L, respectivamente) (KANEKO et al., 2008). Essas enzimas são indicativas de disfunção hepática quando aumentadas. A ALT é uma enzima hepato específica em cães, estando localizada no citoplasma dos hepatócitos e sendo liberada quando há danos leves às membranas celulares. Portanto, é um bom parâmetro para o rastreamento de doenças hepáticas (HAND et al., 2010). Já a FA pode estar aumentada quando há colestase, esteatose hepática ou inflamação do parênquima hepático, não sendo uma enzima hepato específica. Essas enfermidades podem ocasionar obstrução de pequenos canalículos biliares e induzir maior produção e liberação dessa enzima (THRALL et al., 2006).

Houve também diminuição dos valores de colesterol total e triglicerídeos séricos nos cães alimentados com a dieta contendo fonte herbal de colina. Podendo ser devido a presença de fosfatidilcolina, fosfolípido gerado da colina, a qual é responsável pela remoção de lipídios do fígado, pois é essencial para a síntese de lipídios de muito baixa densidade (VLDL), que transportam gordura para os tecidos periféricos (FARINA et al., 2017). Sem o adequado aporte de colina para síntese de fosfatidilcolina, triglicerídeos irão se acumular no organismo, podendo levar a enfermidades hepáticas, como esteatose hepática (WIEDEMAN et al., 2018). Estudo avaliando a mesma fonte herbal de colina encontrou redução dos valores de triglicerídeos e HDL séricos dos cães suplementados com colina, em relação a dieta sem suplementação (MALLO & PAOLELLA, 2017). No entanto, os autores não encontraram diferenças entre os animais alimentados com a fonte herbal ou cloreto de colina.

Embora não se tenha muitos dados relacionados a animais de companhia, são encontrados resultados semelhantes em outras espécies. Kanduri et al. (2013), em uma pesquisa com frangos suplementados com fontes herbais de colina, relataram que as aves suplementadas apresentaram diminuição nos valores de triglicerídeos, colesterol e ALT séricos. De modo semelhante, outro estudo realizado também com frangos, encontrou diminuição do colesterol sérico nos animais alimentados com a fonte herbal de colina e

sintética de colina em relação aos animais não suplementados (SHARMA & RANJAN, 2015). É conhecido que o requerimento de colina é crítico para regulação do metabolismo lipídico, Jadjav et al. (2008), relatam diminuição nas concentrações sérias de colesterol, AST e ALT em frangos suplementados com dietas contendo fonte de colina herbal e sintética.

O fato dos cães terem apresentado maiores níveis séricos de colesterol e triglicerídeos no final do experimento, independentemente do tratamento, era esperado. Isso porque os cães consumiram uma dieta com maior teor de lipídeos (aproximadamente 16,8%) durante o experimento, em relação à dieta que vinham consumindo antes do início do experimento (12,7% de extrato etéreo). Além disso, permaneceram dentro dos valores de referência para cães (125 a 270UI/L e <150 UI/L, respectivamente) (KANEKO et al., 2008)

O único resultado aparentemente controverso foi a vasodilatação moderada de grandes vasos, como veia cava hepática e aorta abdominal, observado nos animais consumindo a dieta com fonte de colina herbal. Entretanto, não foi observada nenhuma outra alteração hepática ou cardíaca que corroborasse esse resultado. Ainda, a avaliação ultrassonográfica não evidenciou alterações de tamanho e ecogenicidade dos órgãos, como fígado e pâncreas, não revelando acúmulo anormal de gordura no fígado. Não foi encontrado nenhum outro estudo que tenha relatado resultado semelhante em animais suplementados com colina. Em humanos há algumas hipóteses que correlacionam a baixa ingestão de colina, associada à betaína, com a incidência da doença coronária cardíaca, porém estudos mais recentes não comprovam tal relação (BIDULESCU et al., 2007).

Em relação a palatabilidade, esta variável é de extrema importância principalmente em animais de companhia, pois está diretamente relacionada a aceitação do alimento pelo animal e consequentemente aceitação do tutor. São muitos os fatores que podem influenciar nos resultados de palatabilidade, entre eles características do alimento e comportamento individual e social do próprio animal (FÉLIX et al., 2010). Neste estudo, não houve influência da adição de colina herbal na preferência das dietas pelos cães. Este fato também foi visto por Mallo e Paoletta (2017), no qual os autores testaram dietas com a adição de colina herbal e cloreto de colina para cães, não havendo preferência por nenhum dos alimentos avaliados.

5 CONCLUSÃO

A colina de fonte herbal avaliada pode substituir o cloreto de colina na nutrição de cães, pois pelas variáveis analisadas, o metabolismo lipídico e demais funções do

organismo não foram prejudicados. Inclusive pode-se aferir melhora de algumas funções, principalmente pela redução significativa nas enzimas hepáticas, colesterol total e triglicerídeos. Em relação à vasodilatação dos grandes vasos, recomenda-se que isso seja melhor investigado em futuros estudos com a colina de fonte herbal.

REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS - AAFCO. Official Publications 2003. Association of American Feed Control Officials, 2003.

BIDULESCU, A.; CHAMBLESS L.; SIEGA-RIZ A.; ZEISEL S.; HEISS G. **Usual choline and betaine dietary intake and incident coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study.** BMC Cardiovasc Disord. 2007.

CARCIOFI, A. C.; TESHIMA, E.; BAZOLI, R. S.; BRUNETTO, M. A.; VASCONCELLOS, R. S.; PEREIRA, G. T.; OLIVEIRA, L. D. Qualidade e digestibilidade de alimentos comerciais de diferentes segmentos de mercado para cães adultos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, p.489-500, 2009.

FARINA, G.; KESSLER, A. M.; EBLING, P. D.; MARX, F. R.; CÉSAR, R.; RIBEIRO, A. M. L. Performance of broilers fed different dietary choline sources and levels. **Ciência animal brasileira**, Goiânia, v.18, p.1-14, 2017.

FÉLIX, A.P.; OLIVEIRA, S.G.; MAIORKA, A. **Fatores que interferem no consumo de alimentos em cães e gatos**, Em: Vieira S.L.; 1º Ed.; Consumo e Preferência alimentar dos animais domésticos. PhytobioticsBrasil, Londrina, p. 162-199, 2010.

HAND, M. S.; THATCHER, C. D.; REMILLARD, R. L.; RODEBUSH, P.; NOVOTNY, B. J. **Small Animal Clinical Nutrition**. 5. ed. Texas, EUA: Mark Morris Institute, p. 745, 2010.

JADHAV, N.; MAINI, S.; RAVIKANTH, K. Comparative efficacy studies of herbal & synthetic choline supplements on broiler growth and performance. **The internet Journal of veterinary medicine**. v. 5, n.2, 2008.

KANDURI, A. B.; SAXENA, M. J.; RAVIKANTH, K.; MAINI, S.; DANDALE, S.; KOKANE, S. S. Performance Assessment of Broiler Poultry Birds Fed on Herbal and Synthetic Amino Acids . Adv. Biores., v. 4, 2013.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6 ed. New York: Academic Press, 2008.

MALLO, G.D.; PAOLELLA, M. Fuente Herbal de Colina em nutrición canina. **Congreso Argentino de Nutrição Animal**, Buenos Aires, 2017.

MENDOZA, G. D.; OVIEDO, M.F.; PINOS, J.M.; LEE-RANGEL, H. A.; VÁZQUEZ, A.; FLORES, R.; PÉREZ, F.; ROQUE, A.; CIFUENTES, O. Milk production in dairy cows supplemented with herbal choline and methionine. **R. FCA Uncuyo**, p. 1853-8665, 2018.

POMPEU, M.A. Suplementação de colina em dietas para frangos de corte machos na fase inicial de criação. Belo Horizonte. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v.63, n.6, p.1446-1452. 2011.

SANTOS, J. L.; PEREIRA, M.M. Utilização de colina em dietas para monogástricos. **PUBVET**, Londrina, v. 4, n. 1, Ed. 106, Art. 716, 2010.

SHARMA, A., RANJAN, S. Effect of herbal and chemically synthetic choline on physio-biochemical characteristics of chicks. **Journal of Global Biosciences**, v. 4, 2015.

THRALL, M. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. 1ª Ed., **Roca**: São Paulo, 2006.

WIEDEMAN, M. A.; BARR, S.I.; GREEN, T. J.; XU, Z.; INNIS, S. M.; KITTS, D. D. Dietary choline Intake: Current State of knowledge across the life cycle. **Mdpi Journal Nutrient**, v. 10, p. 1513, 2018.

ANEXO I – CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo número 023/2019, referente ao projeto "Avaliação da biocolina® como fonte alternativa ao cloreto de colina na dieta para cães", sob a responsabilidade Ananda Portella Félix – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro, de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - BRASIL, com grau 2 de invasividade, em reunião de 08/05/2019.

Vigência do projeto	Julho/2019 até Agosto/2019
Espécie/Linhagem	<i>Canis lupus familiaris</i> (cão)
Número de animais	16
Peso/Idade	11 kg/41 meses
Sexo	Macho e fêmeas
Origem	Laboratório de Estudos em Nutrição Canina da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 023/2019, regarding the project "Evaluation of biocoline® as an alternative source to choline chloride in the diet for dogs" under Ananda Portella Félix supervision – which includes the production, maintenance and/or utilization of animals from Chordata phylum, Vertebrata subphylum (except Humans), for scientific or teaching purposes – is in accordance with the precepts of Law nº 11.794, of 8 October, 2008, of Decree nº 6.899, of 15 July, 2009, and with the edited rules from Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), and it was approved by the ANIMAL USE ETHICS COMMITTEE OF THE AGRICULTURAL SCIENCES CAMPUS OF THE UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (Federal University of the State of Paraná, Brazil), with degree 2 of invasiveness, in session of 08/05/2019.

Duration of the project	July/2019 until August/2019
Species/Line	<i>Canis lupus familiaris</i> (canine)
Number of animals	16
Weight/Age	11 kg/41 months
Sex	Male and female
Origin	Laboratório de Estudos em Nutrição Canina of the Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil.

Curitiba, 08 de maio de 2019

Chayane da Rocha

Chayane da Rocha
Coordenadora CEUA-SCA

Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias - UFPR